第 37 卷第 22 期
2017 年 11 月

生 态 学 报
ACTA ECOLOGICA SINICA

Vol.37,No.22
Nov.,2017

DOI: 10.5846/stxb201609141862
王太,杜岩岩,杨濯羽,张艳萍,娄忠玉,焦文龙.基于线粒体控制区的嘉陵裸裂尻鱼种群遗传结构分析.生态学报,2017,37(22):7741-7749.
Wang T, Du Y Y, Yang Z Y, Zhang Y P, Lou Z Y, Jiao W L.Population genetic structure of *Schizopygopsis kialingensis* inferred from mitochondrial D-loop sequences.Acta Ecologica Sinica,2017,37(22):7741-7749.

基于线粒体控制区的嘉陵裸裂尻鱼种群遗传结构分析

王 太,杜岩岩,杨濯羽,张艳萍*,娄忠玉,焦文龙
甘肃省水产研究所,甘肃省冷水性鱼类种质资源与遗传育种重点实验室, 兰州 730030

摘要:嘉陵裸裂尻鱼为青藏高原特有鱼类,近年来随自然地理气候的变迁和人类活动的影响,种群数量急剧减少。为了解嘉陵裸裂尻鱼的遗传背景以便更好的保护其遗传资源,本研究采用线粒体控制区部分序列变异,分析了嘉陵裸裂尻鱼 6 个地理种群的遗传结构和分布动态。在 147 尾个体中共发现 17 个变异位点,定义了 14 种单倍型,群体总的单倍型多样性较高为 0.810,核苷酸多样性低为 0.00698。AMOVA 分析显示,44.29%的分子差异源于群体间,55.71%的分子差异源于群体内,群体间遗传分化极显著。*F*st 值统计检验表明,除宕昌群体和舟曲群体之间差异不显著外,其余两两群体之间 *F*st 值统计检验均显著。基因流估计显示各群体间的基因流水平较高,遗传交流较频繁。Mantel test 检验表明,嘉陵裸裂尻鱼种群之间遗传分化程度与地理距离存在显著相关。系统树和单倍型网络进化图显示,6 个地理群体的单倍型按照嘉陵江水系和渭河水系形成两个大的类群。错配分布和中性检验表明嘉陵裸裂尻鱼群体在近期历史上群体大小保持稳定,未出现显著的种群扩张。根据本文所揭示的嘉陵裸裂尻鱼种群遗传结构特征,建议将分布在嘉陵江水系的嘉陵裸裂尻鱼作为一个整体进行保护,嘉陵裸裂尻鱼渭河种群属高度分化的单倍型类群,且遗传多样性极低,需对该种群进行优先保护。

关键词:嘉陵裸裂尻鱼;线粒体控制区;种群遗传结构;遗传多样性

Population genetic structure of *Schizopygopsis kialingensis* inferred from mitochondrial D-loop sequences

WANG Tai, DU Yanyan, YANG Zhuoyu, ZHANG Yanping*, LOU Zhongyu, JIAO Wenlong
Gansu Key Laboratory of Cold Water Fishes Germplasm Resources and Genetics Breeding, Gansu Fisheries Research Institute, Lanzhou 730030, *China*

Abstract: *Schizopygopsis kialingensis* is an endemic fish of the Bailong River, which is a tributary of the Jialing River. The species' population has been largely reduced in recent years as a result of overfishing, river pollution, and dam construction. To develop effective strategies forpreserving the species' germplasm, it is first necessary to understand the species' genetic variation and population structure. Therefore, in the present study, a 706-bp segment of the mitochondrial control region was sequenced from 147 *S. kialingensis* specimens that were collected from six populations in the Bailong and Weihe Rivers. Seventeen variable sites and 14 haplotypes were identified. The six populations exhibited high haplotype diversity (0.810) and low nucleotide diversity (0.00698), and the genetic diversity of the Zhouqu County Chengguan Township population was highest, whereas that of the Weiyuan County Qiaoyu Township population was the lowest. AMOVA indicated that significant difference among populations, with 44.29% molecular variation among the populations and 55.71% molecular variation within populations. Pairwise fixation index (*F*st) values indicated that all the populations were significantly different, except the Tanchang County Nanhe Township and Zhouqu County Chengguan Township populations. Meanwhile, gene flow estimates suggested high levels of gene flow, and the Mantel test indicated that the genetic and

基金项目:国家自然科学基金项目(31460560);甘肃省创新团队建设计划(1207TTCA008)
收稿日期:2016-09-14; **修订日期**:2016-12-07

*通讯作者 Corresponding author.E-mail: aqhongqi@ qq.com

geographic distances were significantly correlated. In addition, the construction of a neighbor-joining phylogenetic tree and a minimum spanning network indicated that the 14 haplotypes formed two main groups that corresponded to the Bailong River and Weihe River systems, and mismatch distribution and neutrality analyses indicated that the population has not under gone recent expansion. According to these findings, we suggest that the *S. kialingensis* population in the Bailong River should be protected and that the protection of the Weihe River population should be prioritized, owing to the group′s high genetic differentiation and very low genetic diversity.

Key Words: *Schizopygopsis kialingensis*; Mitochondria D-loop; Population Genetic Structure; Genetic diversity

青藏高原作为全球遗传多样性的重要区域,通过对鱼类生物地理学的研究在探讨青藏高原的地质变迁和水系演化方面具有现实意义。裂腹鱼亚科(Schizothracinae)鱼类是青藏高原鱼类的重要类群之一,它们对高原环境表现出了很强的适应性,成为在高原上分布范围最广、分布海拔最高的类群,最高可分布到海拔 5600 m,是鲤科鱼类中适应高寒环境的一个特化类群[1],它和鳅科高原鳅属鱼类共同构成了青藏高原鱼类区系的主体。

嘉陵裸裂尻鱼(*Schizopygopsis kialingensis*)属裂腹鱼亚科裸裂尻鱼属(*Schizopygopsis*),主要分布在嘉陵江上游支流白龙江,以底栖无脊椎动物为食。繁殖期在每年 6 月河流解冻之后,产卵场位于水深 1 米以内的缓流处。近年来,随着自然地理气候的变迁、人类活动的加剧,涉水工程的建设、水体污染和长期过度捕捞等对嘉陵裸裂尻鱼"三场"及栖息地、洄游通道等造成了严重影响,再加上其性成熟晚,分布区域狭窄,生长速度缓慢等自身因素限制了种群的发展[2],种群数量急剧减少,栖息地呈现出一种破碎化状态,已经被列入甘肃省重点保护野生动物名录。目前,嘉陵裸裂尻鱼的相关研究主要集中在形态学[3]、资源分布[4]和分类地位[5]方面,遗传多样性评估方面的研究还未见有报道。

线粒体 DNA 具有结构简单、母系遗传、几乎不发生重组和进化速度较快的特点,是研究动物群体遗传学的理想分子标记[6][7]。线粒体 DNA 控制区序列为线粒体非编码区序列,进化速度较快,是分析鱼类种群遗传结构的优良标记。赵凯等[8]采用 D-loop 和 cytb 联合序列分析了的祁连山裸鲤的生物地理学过程,认为在 0.05—0.37Ma 前祁连裸鲤种群由石羊河沿着青藏高原东北边缘由东向西扩张。孟玮等[9]采用 D-loop 序列片段分析了塔里木裂腹鱼的遗传结构,认为塔里木河的 5 个群体间遗传分化显著。本文通过线粒体控制区序列变异分析了嘉陵裸裂尻鱼的种群遗传变化,旨在为嘉陵裸裂尻鱼资源的管理与保护提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集和 DNA 提取

实验采集嘉陵裸裂尻鱼 6 个野生群体(见图 1),共 147 尾个体,样品数量、采集地见表 1。取右侧胸鳍2 g 置于无水乙醇中固定后带回实验室进行分析,采用酚/氯仿法提取基因组 DNA。

1.2 PCR 扩增和序列测定

扩增 mtDNA 控制区序列的引物[8]: GEDL200: 5′-CACCCCTGGCTCCCAAAGCCAG- 3′; GEDH860: 5′-AGGGGTTTGACAAGAATAACAGGA-3′,由上海美吉生物医药科技有限公司合成。PCR 反应体系为 25 μL,其中包括 1 U TaqDNA 聚合酶(TaKaRa),2.5 μL 10× Taq buffer(TaKaRa,含 Mg^{2+}),两条引物(10 mmol/L)各 1 μL,0.5 μL dNTPs(2.5 mmol/L)1 μL DNA 模板,其余双蒸水补足。PCR 反应程序为:94℃预变性 5 min;94℃变性 30 s, 55℃退火 30 s, 72℃延伸 60 s,共 30 个循环;反应结束后在 72℃再延伸 10 min。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳检测后送上海美吉生物工程公司纯化并双向测序,测序引物为扩增引物。

1.3 数据分析

用 DnaSP 5.0 软件[10]计算单倍型数、多态位点、单倍型多样性、核苷酸多样性和错配分布(Mismatch)分析

表 1　嘉陵裸裂尻鱼样本信息及遗传多样性指数

Table 1　Locations, number of individuals and diversity parameters for the population of *Schizopygopsis kialingensis*

种群 Populations	地理坐标 Geographic location	样本数 Samplesize (*N*)	单倍型数 Number of haplotypes (*Nh*)	多态位点 Number of polymorphic sites (*Np*)	单倍型多样性 Haplotype diversity (*Hd*)	核苷酸多样性 Nucleotide diversity (π)
迭部益哇乡	N 34°09.532′ E 103°10.427′ H 2616 m	28	4	3	0.426±0.107	0.00084±0.00026
迭部腊子乡	N 34°11.278′ E 103°52.456′ H 2210 m	30	4	4	0.671±0.053	0.00144±0.00025
舟曲城关镇	N 33°54.539′ E 104°00.935′ H 1592 m	19	4	6	0.713±0.074	0.00319±0.00047
舟曲拱坝乡	N 33°29.430′ E 104°32.525′ H 1406 m	17	4	5	0.618±0.106	0.00204±0.00041
宕昌南河镇	N 33°57.647′ E 104°25.316 H 1777 m	25	3	5	0.547±0.054	0.00305±0.00025
渭源锹峪乡	N 35°00.890′ E 104°12.790 H 2231 m	28	2	1	0.071±0.065	0.00010±0.00009
合计 Total		147	14	17	0.810±0.018	0.00698±0.00044

(自举值为 500)等;采用 Arlequin 3.0 软件[11]计算两两群体间的遗传分化指数 *FST* 值(重复次数 10000),用公式 $Nm=[(1/Fst)-1]/2$ 计算基因流 *Nm*[12],并进行 AMOVA 分析和 Tajima′s D、Fu′s Fs 中性检验(重复次数 10000),获得 SSD 值和 Raggedness 值。采用矩阵相关分析(Mantel test)检验 6 个种群之间的遗传分化是否与地理距离相关,检验矩阵为种群两两之间线性化的遗传分化系数 *F*st 矩阵及采样点地理距离矩阵,地理距离为两个 GPS 位点间的直线距离,并进行 ln 转换,计算相关系数 r。用 Mega 7.0 软件[13]统计碱基组成,并基于 Kimura2-parameter 模型以黄河裸裂尻鱼、极边扁咽齿鱼和齐口裂腹鱼为外群,用邻接法(Neighbor-joining, NJ)构建分子系统树,系统树中节点的自举置信水平应用自引导估计,循环次数为 1000 次。Network 4.6.1.1 软件[14]中的 median-joining 算法绘制单倍型最小网络关系图,用以展示单倍型进化关系。

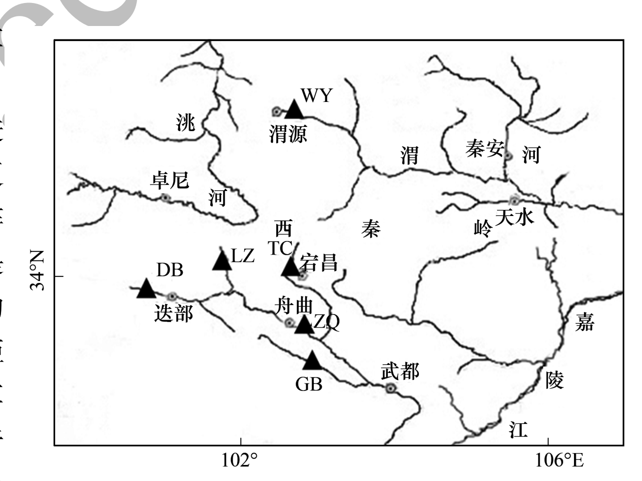


图 1　嘉陵裸裂尻鱼采样点分布图

Fig.1　Sketch map of sampling sites of *Schizopygopsis kialingensis*

2　结果

2.1　序列变异及群体遗传多样性

对嘉陵裸裂尻鱼的线粒体控制区序列进行比对排序后,得到 706 bp 的同源序列。147 尾个体共包含 17 个核苷酸变异位点,其中简约信息位点 16 个,单突变位点 1 个。碱基组成分析显示,A、T、C 和 G 碱基平均含量分别为 31.6%、31.6%、21.9%和 14.9%,其中 A+T 含量(63.2%)明显高于 G+C 含量(36.8%),表现出明显的 AT 偏好和反 G 偏倚,与其他脊椎动物线粒体控制区核苷酸的组成特点相一致[15]。嘉陵裸裂尻鱼群体的遗传

多样性信息见表 1,由表 1 中可以看出 147 尾个体共检测出 14 个单倍型(KY092436—KY092449),显示出较高的单倍型多样性和较低的核苷酸多样性(Hd=0.810±0.018;π=0.00698±0.00044),其中采样点舟曲城关镇的嘉陵裸裂尻鱼单倍型多样性最高,为 0.713±0.074;采样点渭源锹峪乡的单倍型多样性最低,为 0.071±0.065。

2.2 群体遗传分化

通过计算两两群体间 Fst 值得到的结果显示(表 2),宕昌群体(TC)和舟曲群体(ZQ)之间差异不显著(P>0.01),其余两两群体之间 Fst 值统计检验均显著。其中,迭部群体与渭源群体间的 Fst 值最大(0.75132),宕昌群体与舟曲群体间的 Fst 值最小(0.03368)。嘉陵裸裂尻鱼群体进行分子变异(AMOVA)分析结果显示(表 3),44.29%的分子差异位于群体间,55.71%的分子差异位于群体内,群体间遗传分化极显著(Fst=0.44292;P =0.000)。按照采样点所处水系将 6 个地理种群分为 2 组,渭源种群为 1 组,其余 5 个种群为 1 组,进行 AMOVA 分析显示,38.48%的分子差异位于组间,19.25%的分子差异位于组内群体间,42.27%的分子差异位于群体内,组间的遗传分化不显著(Fst=0.38481;P=0.155),组内群体间和群体内的遗传分化极显著。根据遗传分化指数计算出种群间的基因流 Nm 为 0.08275—7.17280,其中只有舟曲群体与迭部群体、拱坝群体和宕昌群体,宕昌与迭部群体之间的基因流大于 1(表 4)。

表 2 嘉陵裸裂尻鱼群体间 *F*st 值(对角线下)**及相应的 *P* 值**(对角线上)

Table 2 Pairwise *Fst* (below diagonal) **and associated *P* values** (above diagonal) **among *Schizopygopsis kialingensis***

群体属地 Population geography	迭部益哇乡	迭部腊子乡	舟曲城关镇	舟曲拱坝乡	宕昌南河镇	渭源锹峪乡
迭部益哇乡		0.000	0.009	0.000	0.000	0.000
迭部腊子乡	0.44927		0.000	0.000	0.000	0.000
舟曲城关镇	0.10357	0.23384		0.009	0.162	0.000
舟曲拱坝乡	0.34506	0.35236	0.12884		0.000	0.000
宕昌南河镇	0.16294	0.24908	0.03368	0.33274		0.000
渭源锹峪乡	0.75132	0.62172	0.65131	0.70673	0.70106	

表 3 嘉陵裸裂尻鱼 6 种群间遗传差异的分子方差分析(AMOVA)

Table 3 Analysis of molecular variance (AMOVA) **among 6 populations of *Schizopygopsis kialingensis***

变异来源 Source of variation	自由度 *df*	平方和 Sum of squares	变异组分 Variance components	变异百分比(%) Percentage of variation	*F*	*P*
群体间 Among populations	6	24.773	0.19380Va	44.29	0.44292	0.000
群体内 Within populations	141	34.370	0.24376Vb	55.71		
总体 Total	146	59.143	0.43756	100.00		
分组间 Among groups	1	13.347	0.22192Va	38.48	0.38481	0.155
组内群体间 Among populations within groups	4	11.426	0.11103Vb	19.25	0.31294	0.000
群体内 Within populations	141	34.370	0.24376Vc	42.27	0.57733	0.000
总体 Total	146	59.143	0.57671	100.00		

表 4 嘉陵裸裂尻鱼 6 个地理种群间基因流(*N*m)(下三角)**与地理距离**(km)(上三角)

Table 4 Matrix of population pairwise migration rates (*N*m) **values** (below diagonal) **and geographical distances** (km) (above diagonal) **between populations of *Schizopygopsis kialingensis***

群体属地 Population geography	迭部益哇乡	迭部腊子乡	舟曲城关镇	舟曲拱坝乡	宕昌南河镇	渭源锹峪乡
迭部益哇乡		67.6	110.6	143.8	115.8	144.2
迭部腊子乡	0.30646		53.0	84.4	47.9	105.3
舟曲城关镇	2.16383	0.81911		34.8	27.5	136.3
舟曲拱坝乡	0.47451	0.45950	1.69039		59.9	145.1
宕昌南河镇	1.28431	0.75369	7.17280	0.50134		117.7
渭源锹峪乡	0.08275	0.15211	0.13384	0.10374	0.10660	

Mantel test 检验表明,嘉陵裸裂尻鱼种群之间遗传分化程度与地理距离存在显著的相关(r=0.6952, P<0.0500),说明距离隔离模型可以有效的解释嘉陵裸裂尻鱼种群目前遗传格局的形成。但是也有情况例外,迭部嗌哇乡(DB)群体与迭部腊子乡(LZ)群体的地理距离较近,但群体之间的遗传差异较大。

2.3　分子系统发育分析

以黄河裸裂尻鱼(*Schizopygopsis pylzovi*)、极边扁咽齿鱼(*Platypharodon extremus*)和齐口裂腹鱼(*Schizothorax prenanti*)为外类群,应用邻接法(NJ)构建嘉陵裸裂尻鱼 14 个线粒体控制区序列单倍型(KY092436-KY092449)之间的系统发育树(图 2)。结果显示,所有的嘉陵裸裂尻鱼样本聚为一个单系,并清楚的识别出了对应于水系的两个谱系群体,即嘉陵江组群和渭河组群。依据 Network 软件以中接法(Median-joining)构建的单倍型进化网络关系图显示(图 3、图 4),大部分单倍型之间经过一步突变,H1 做为嘉陵裸裂尻鱼在嘉陵江水系的祖先单倍型,H3 做为渭河水系的祖先单倍型,并且两个谱系群体之间没有共享单倍型。单倍型进化网络图进一步支持了系统发育树的分析, 嘉陵裸裂尻鱼 6 个地理群体的单倍型按照嘉陵江水系和渭河水系形成两个大的类群。

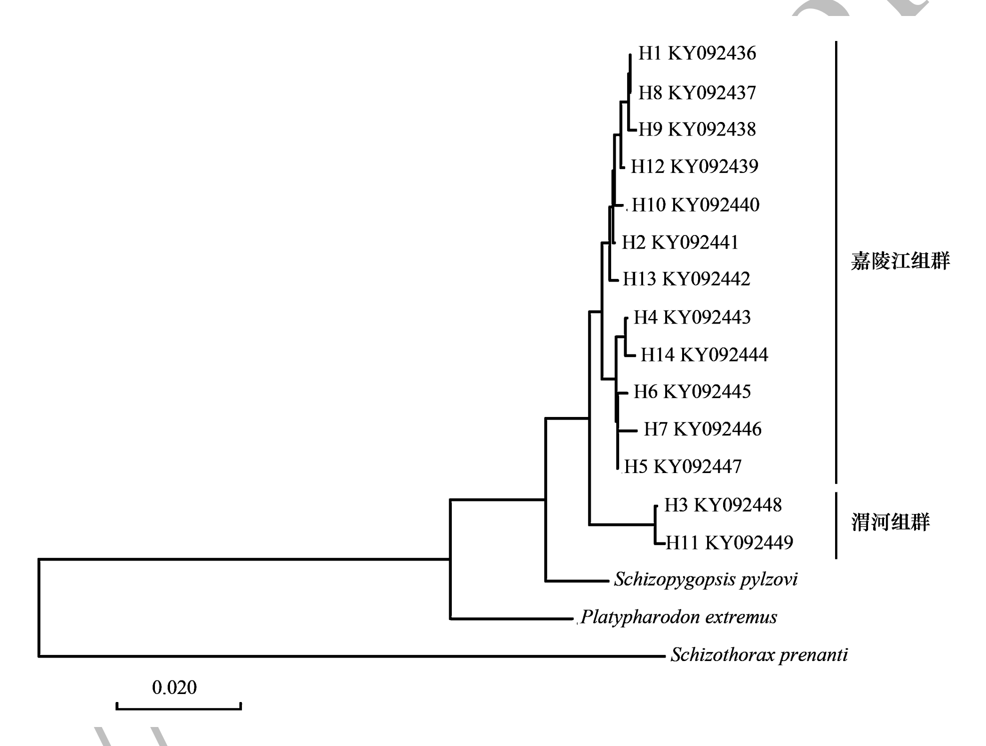


图 2　基于 D-loop 区序列构建嘉陵裸裂尻鱼的 NJ 树,节点处的数字为 1000 次 bootstrap 检验的支持率

Fig.2　A neighbor-joining tree of part of *Schizopygopsis kialingensis*in resulted from D-loop sequence. Numbers at nodes are percent recovery in bootstrap analysis (1000 replicates)

2.4　群体扩张分析

对所扩增的 147 尾嘉陵裸裂尻鱼的线粒体控制区序列进行核苷酸错配分布分析、Tajima′s D 和 Fu′s FS 中性检验来分析种群历史动态。结果显示,迭部益哇乡群体(DB)、迭部腊子乡群体(LZ)和渭源群体(WY)的核苷酸错配分布曲线呈明显的单峰型(图 3),但 Tajima′s D 和 Fu′s FS 检验均不显著(P>0.05),表明这 3 个群体未显著偏离种群扩张模型。其余 3 个群体的核苷酸错配分布都呈现多峰分布,且 Tajima′s D 和 Fu′s FS 检验均不显著,未检测到种群扩张。将所有个体做为一个整体进行核苷酸错配分布,呈现出多峰分布,Tajima′s D 和 Fu′s FS 检验符合中性进化的假设,说明嘉陵裸裂尻鱼群体在近期历史上群体大小保持稳定,未出现显著的种群扩张。

3 讨论

3.1 遗传多样性分析

种群遗传多样性是生物多样性的重要组成部分,体现了物种对不同环境的适应能力的潜力,遗传多样性水平、形成机制和分布格局可揭示物种起源与进化历程,是物种进化潜能的保证,也是物种保护工作的基础。单倍型多样性(h)和核苷酸多样性(π)是衡量一个物种群体变异程度的重要指标[16]。嘉陵裸裂尻鱼的单倍型多样性和核苷酸多样性($Hd=0.810\pm0.018$;$\pi=0.00698\pm0.00044$)整体低于同亚科鱼类齐口裂腹鱼[17](*Schizothorax prenanti*)($Hd=0.98$;$\pi=0.019$)和极边扁咽齿鱼[18](*Platypharodo nextremus*)($Hd=0.995$;$\pi=0.0129$),与厚唇裸重唇鱼[19](*Gymnodiptychus pachycheilus*)($Hd=0.844$;$\pi=0.0054$)和黄河裸裂尻鱼(*Schizopygopsis pylzovi*)[20]($Hd=0.79$;$\pi=0.0027$)相当。嘉陵裸裂尻鱼6个地理群体的单倍型多样性呈现出有些群体高、有些群体低的现象,而核苷酸多样性均较低,甚至在迭部益哇乡(DB)和渭源(WY)群体的核苷酸多样性低于0.001。这种在不同群体的遗传多样性存在显著的地理差异的现象在淡水鱼类中被大量观察到[21,22],嘉陵裸裂尻鱼较低的核苷酸多样性,可能与青藏高原第四纪以来经历了数次地质变迁和气候的改变,使种群受到"瓶颈效应"的打击,后部分种群又受到"创立者效应"的作用,导致部分种群的遗传多样性贫乏。对于渭源种群(WY)来说,长期的地理隔离也可能是造成遗传多样性水平极低的主要原因之一,有效群体数量小引起的遗传漂变导致大量的遗传变异丢失。

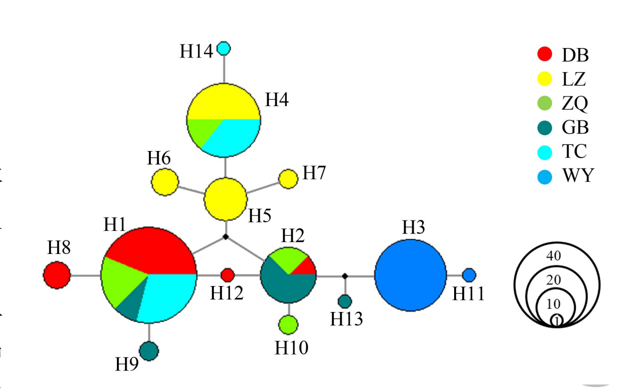


图3 嘉陵裸裂尻鱼单倍型最小进化网络关系

Fig.3 Haplotypes minimum spanning network for *Schizopygopsis kialingensis*

表5 嘉陵裸裂尻鱼的中性检验

Table 5 Neutrality tests of *Schizopygopsis kialingensis*

群体属地 Population	Tajima 氏 D 检验值 Tajima's D	P 值 P	Fu 氏 FS 检验值 Fu's FS	P 值 P
迭部益哇乡	-0.56351	0.335	-0.89198	0.225
迭部腊子乡	0.00462	0.568	0.43345	0.611
舟曲城关镇	0.97533	0.866	2.04215	0.863
舟曲拱坝乡	-0.11454	0.475	0.63814	0.662
宕昌南河镇	1.75057	0.960	3.87064	0.953
渭源锹峪乡	-1.15142	0.157	-1.15451	0.056
总体 Total	0.15017	0.560	0.82298	0.561

3.2 遗传结构分析

有研究得出地理隔离或同一水域中存在不同的栖息环境限制了基因交流,是鱼类出现种群分化的重要原因[23],遗传分化和基因流是评价种群遗传结构的重要指标。渭源群体(WY)采自黄河流域渭河,而其他5个地理群体为嘉陵江水系,受地理隔离影响渭源群体与其他群体之间的 Fst(0.62172—0.75132)远大于0.25,说明嘉陵裸裂尻鱼渭源群体与其他种群之间遗传分化较大,这与基因流 Nm 分析结果一致,群体间基因流贫乏。位于嘉陵江5个水系连通地理群体之间 Fst(0.03368-0.44927)较小,相邻地理种群之间有基因交流(Nm>1),可以抑制遗传漂变引起的遗传分化[24],这可能与嘉陵裸裂尻鱼具有短距离洄游这一习性有关。Mantel test 检验表明,嘉陵裸裂尻鱼种群之间遗传分化程度与地理距离存在显著相关,说明距离隔离模型可以有效解释种群目前遗传格局的形成。但是也有迭部嗌哇乡(DB)群体与迭部腊子乡(LZ)群体的地理距离较近,但群体之间的遗传差异较大的现象,说明地理隔离并非唯一影响嘉陵裸裂尻鱼遗传格局的因素,推测可能是由于白龙江上游大量梯级电站的建设,使河流失去连通性,限制了嘉陵裸裂尻鱼的扩散,导致两者之间的遗传分化

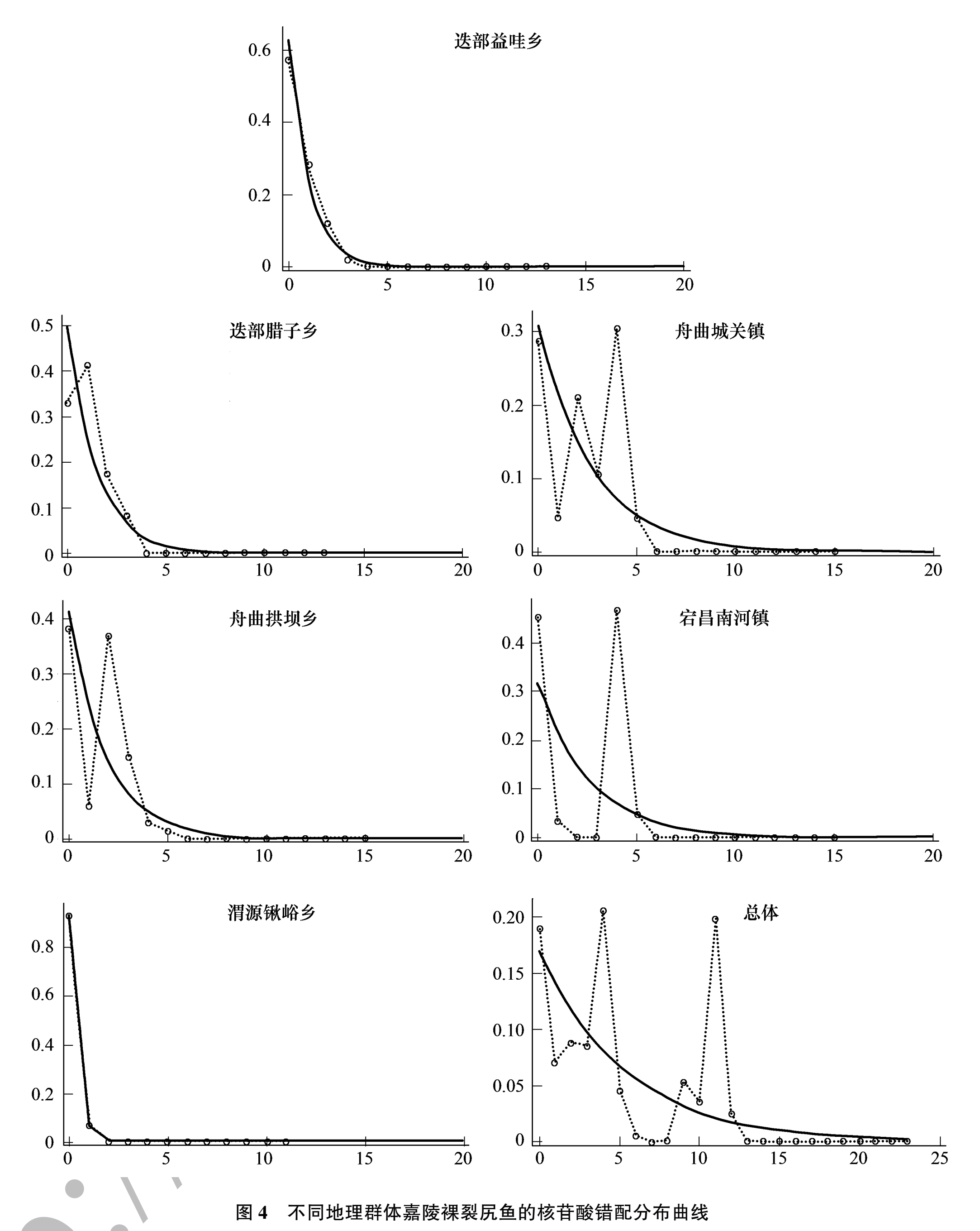


图 4　不同地理群体嘉陵裸裂尻鱼的核苷酸错配分布曲线

Fig.4　The result ofmismatchdistributionpairwise haplotypes geneticdifferences for*Schizopygopsis kialingensis*

(实线为模拟的不配对分布,虚线为观察到的不配对分布 A:DB,B:LZ,C:ZQ,D:GB,E:TC,F:WY,G:整体)

加大。

分子变异分析(AMOVA)显示,55.71%的变异来自于种群内,44.29%的变异来自于种群间。种群间的遗传变异较大,这与单倍型系统进化树(图 1)和单倍型进化网络关系图(图 2)相一致,渭源种群单倍型独自聚为一支,且渭源种群与其他种群之间没有共享单倍型。按照水系将嘉陵裸裂尻鱼种群划分为 2 组进行 AMOVA 分析显示,嘉陵江水系 5 个地理种群间的遗传变异将为 19.25%,大部分的遗传变异来自于种群内的个体之间(42.27%),这同样与单倍型进化树和单倍型进化网络关系图相一致,嘉陵江水系 5 个地理种群间没有显著的地理种群结构。基因流估计显示各群体间的基因流水平较高,遗传交流较频繁,这与它们缺乏种群结构是一致的。综合这几方面研究结果都显示,嘉陵江水系的嘉陵裸裂尻鱼没有显著的种群分化。

3.3 种群历史动态与保护

嘉陵裸裂尻鱼整体、舟曲城关镇种群(ZQ)、舟曲拱坝乡种群(GB)和宕昌种群(TC)的核苷酸错配分析均呈多峰分布,Tajima's D 和 Fu's FS 检验符合中性进化的假设。迭部益哇乡群体(DB)、迭部腊子乡群体(LZ)和渭源群体(WY)的核苷酸错配分布曲线呈明显的单峰型(图 3),但 Tajima's D 和 Fu's FS 检验都不显著($P>0.05$),表明嘉陵裸裂尻鱼群体在近期历史上群体大小保持稳定,未出现显著的种群扩张。在很多鱼类中都发现了单倍型多样性高而核苷酸多样性低的现象[25,26],被认为是小的有效群体经过一段时间的稳定后发生了扩张,快速的种群扩张有利于提高对新突变的保持能力而导致核苷酸多样性低[27]。而嘉陵裸裂尻鱼这种单倍型多样性偏低和核苷酸多样性低的状况,推测在第四纪冰期期间由于种群受到"瓶颈效应"打击之后,未发生种群扩张事件,导致遗传多样性偏低。这可能与其自身的性成熟年龄(5 龄)晚,个体小(调查最大个体全长 18cm)导致的怀卵量低等生物学特性有关[1]。

鱼类种群遗传结构和谱系系统地理格局的研究结果能够为物种保护策略及渔业管理措施的制定提供科学依据[28]。嘉陵裸裂尻鱼遗传多样性总体较为丰富,但各个地理群体内的多样性比较贫乏。受自然环境变化和涉水工程的建设等因素的影响,可能导致嘉陵裸裂尻鱼的遗传多样性继续降低,对复杂环境的适应能力降低,从而进一步威胁到嘉陵裸裂尻鱼的生存。虽然目前已经建立了一些保护措施,如建立的白龙江特有鱼类国家级水产种质资源保护区、岷江宕昌段特有鱼类国家级水产种质资源保护区和白龙江舟曲段特有鱼类省级水产种质资源保护区,并在嘉陵江采取人工增殖放流措施。但这些措施对保护嘉陵裸裂尻鱼可能并不完善。物种的保护必须考虑到自身的遗传特性,否则保护将可能是不成功的[29]。本研究结果表明,嘉陵裸裂尻鱼的核苷酸多样性较低,提示对其遗传多样性的保护是非常迫切的。根据进化上具关键意义的单元 ESU (Evolutionarily Significant Unit)设置的原则[30],我们可以将嘉陵江水系的嘉陵裸裂尻鱼种群当作一个保护管理单元进行保护,嘉陵裸裂尻鱼渭河种群属高度分化的单倍型类群,且遗传多样性极低,需当作一个保护管理单元进行优先保护。

参考文献(References):

[1] 武云飞, 吴翠珍. 青藏高原鱼类. 成都: 四川科技出版社, 1992:463-465.

[2] 武云飞. 中国裂腹鱼亚科鱼类的系统分类研究. 高原生物学集刊, 1984, (3): 119-140.

[3] 伍献文. 中国鲤科鱼类志. 上海: 上海科学技术出版社, 1964:137-197.

[4] 王香亭. 甘肃省脊椎动物志. 兰州: 甘肃省科学技术出版社, 1991:106-107.

[5] 何德奎, 陈毅锋, 陈宜瑜, 陈自明. 特化等级裂腹鱼类的分子系统发育与青藏高原隆起. 科学通报, 2003, 48(22): 2354-2362.

[6] Avise J C, Arnold J, Ball R M, Bermingham E, Lamb T, Neigel J E, Reeb C A, Saunders N C. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. Annual Review of Ecology and Systematics, 1987, 18(1): 489-522.

[7] Sbisà E, Tanzariello F, Reyes A, Pesole G, Saccone C. Mammalian mitochondrial D-loop region structure analysis: identification of new conserved sequences and their functional and evolutionary implications. Gene, 1997, 205(1/2): 125-140.

[8] Zhao K, Duan Z Y, Peng Z G, Gan X N, Zhang R Y, He S P. Phylogeography of the endemic *Gymnocyprischilianensis* (Cyprinidae): sequential westward colonization followed by allopatric evolution in response to cyclical Pleistocene glaciations on the Tibetan Plateau. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2011, 59(2): 303-310.

[9] 孟玮, 郭焱, 海萨, 杨天燕, 马燕武, 谢春刚. 塔里木裂腹鱼群体遗传结构及遗传多样性分析. 水生生物学报, 2012, 36(5): 851-857.

[10] Librado P, Rozas J. DnaSP v5: a software for comprehensiveanalysis of DNA polymorphism data. Bioinformatics, 2009, 25(11): 1451-1452.

[11] Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin (version. 3.0): Anintegrated software package for population genetics dataanalysis. Evolutionary Bioinformatics Online, 2007, 1: 47-50.

[12] Hudson R R, Slatkin M, Maddison W P. Estimation oflevelsof gene flow from DNA sequence data. Genetics, 1992, 132(2): 583-589.

[13] KumarS, Stecher G, TamuraK. MEGA7: molecularevolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. Molecular Biology and Evolution, 2016, 33(7): 1870-1874.

[14] Bandelt H J, Forsrer P, Röhl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. Molecular Biology and Evolution, 1999, 16(1): 37-48.

[15] Schneider S, Excoffier L. Estimation of past demographic parameters from the distribution of pairwise differences when the mutation rates vary among

sites: application to human mitochondrial DNA. Genetics, 1999, 152(3): 1079-1089.

[16] NeigelJE, AviseJC. Application of a random walk model to geographic distributions of animal mitochondrial DNA variation. Genetics, 1993, 135(4): 1209-1220.

[17] Song Z B, Song J, Yue B S. Population genetic diversity of Prenant's schizothoracin, *Schizothora xprenanti*, inferred from the mitochondrial DNA control region. Environmental Biology of Fishes, 2008, 81(3): 247-252.

[18] 苏军虎, 张艳萍, 娄忠玉, 刘焕章, 焦文龙, 魏彦明.黄河上游极边扁咽齿鱼种群遗传结构. 动物分类学报, 2012, 37(1): 29-35.

[19] 苏军虎, 张艳萍, 娄忠玉, 刘焕章, 焦文龙, 杨建宝, 魏彦明. 基于线粒体控制区序列的黄河上游厚唇裸重唇鱼种群遗传结构. 生态学报, 2012, 32(13): 4191-4198.

[20] 赵凯, 杨公社, 李俊兵, 何舜平. 黄河裸裂尻鱼群体遗传结构和 Cyt b 序列变异. 水生生物学报, 2006, 30(2): 129-133.

[21] BillingtonN, HebertPDN. Mitochondrial DNA diversity in fishes and its implications for introductions. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 1991, 48(S1): 80-94.

[22] 肖武汉, 张亚平. 鱼类线粒体 DNA 的遗传与进化. 水生生物学报, 2000, 24(4): 384-391.

[23] Wright S. Evolution in Mendelian populations. Genetics, 1931, 16(2): 97-159.

[24] Wright S. Evolution and the Genetics of Populations: Variability within and among Natural Population. Chicago: University of Chicago Press, 1978: 79-103.

[25] Liu G X, Zhou J, Zhou D G. Mitochondrial DNA reveals low population differentiation in elongate loach, *Leptobotiaelongata* (Bleeker): implications for conservation. Environmental Biology of Fishes, 2012, 93(3): 393-402.

[26] Yu D, Chen M, Tang Q Y, Li X J, Liu H Z. Geological events and Pliocene climate fluctuations explain the phylogeographical pattern of the cold water fish *Rhynchocyprisoxycephalus* (Cypriniformes: Cyprinidae) in China. BMC Evolutionary Biology, 2014, 14: 225-225.

[27] Grant W A S, Bowen B W. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. Journal of Heredity, 1998, 89(5): 415-426.

[28] Loeschcke V, Tomiuk J, Jian S K. Conservation Genetics. Basel: Birkhäuser Verlag, 1994: 37-53.

[29] Frankham R. Genetics and conservation biology. Comptes Rendus Biologies, 2003, 326(S1): 22-29.

[30] MoritzC. Defining'evolutionarily significant units' for conservation. Trends in Ecology & Evolution, 1994, 9(10): 373-375.